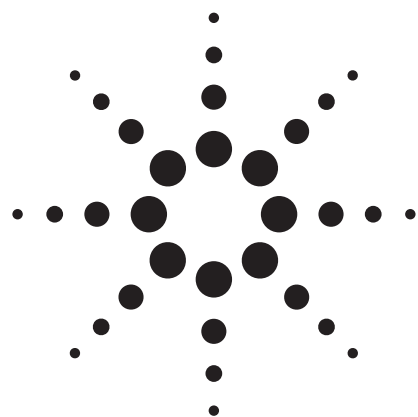
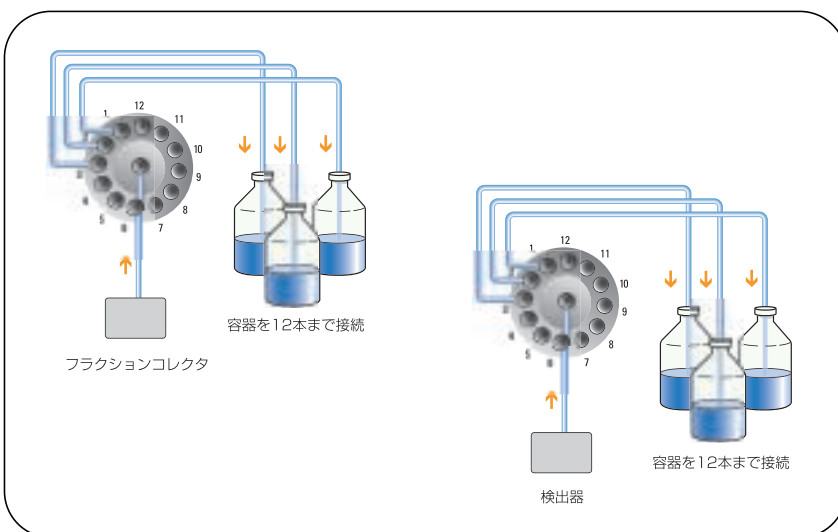




リカバリーコレクションと タイムベースフラクションコレクション： Agilent 1100 シリーズの バルブソリューションによる 分取 HPLC

Udo Huber

アプリケーション



要旨

Agilent 1100 シリーズピュリフィケーションシステムは製薬産業での化合物の分離と精製に理想的なツールであり、高いスループットと保持容量および生産性をターゲットに最適化されています。このアプリケーションノートでは、Agilent 1100 シリーズ 12 ポジション/13 ポートバルブをピュリフィケーションシステムに組み合わせて、容易なりカバリーコレクションと、シンプルなタイムベースフラクションコレクションを実現できることを説明します。



Agilent Technologies

はじめに

このアプリケーションノートは Agilent 1100 シリーズ12 ポジション/13 ポートバルブをピュリフィケーションシステムに組み合わせた 2 つのアプリケーション例を紹介します。最初の例ではリカバリーコレクションにこのバルブを使用し、フラクションとして採取しなかったサンプルの残り部分を専用容器に回収します。精製ランの途中で何らかの不具合（パラメータ設定の誤りなど）が発生した場合、サンプルは廃液容器とは別な容器に回収されているため容易にやり直しができます。第 2 の例は、このバルブを利用したシンプルな精製システムで、タイムベースによるフラクションコレクションを可能にします。

装置

使用システムは以下のモジュールから構成されています。

- Agilent 1100 シリーズ分取用ポンプ×2 台
- Agilent 1100 シリーズ分取オートサンプラ
- Agilent 1100 シリーズカラムオーガナイザ
- Agilent 1100 シリーズ 12-ポジション/13-ポートバルブ
- Agilent 1100 シリーズダイオードアレイ検出器
- Agilent 1100 シリーズフラクションコレクタ PS (分取スケール)。

このシステムのコントロールには Agilent ケミステーション (rev.A.09.03) とピュリフィケーション/ハイスループット・ソフトウェア (rev.A.01.02) を使用します。

結果

リカバリーコレクション

ピュリフィケーション/ハイスループット・ソフトウェアにはリカバリーコレクション機能があります。これにより、フラクションとして採取されなかった残りの全てを専用容器に回収するため、失敗

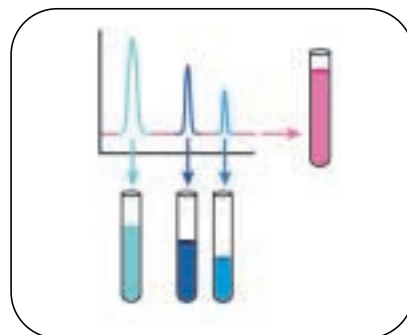


図 1
リカバリーコレクション

しても容易にやり直しができます (図1)。リカバリーコレクションを実行するためにはファンネルトレイ (G1364-84502) を装備した Agilent 1100 シリーズフラクションコレクタ AS (分析スケール) を使用する必要があります。1100 シリーズフラクションコレクタ PS (分取スケール) のニードルは短かすぎるためファンネルトレイには使用できません。

別法として、表紙の図に示すように、12 ポジション/13 ポートバルブをフラクションコレクタ (AS または PS) の廃液チューブに取り付けることによってリカバリーコレクションを実行できます。バルブを使用する場合のメソッド設定を図2 のバルブ設定ウィンドウに示します。

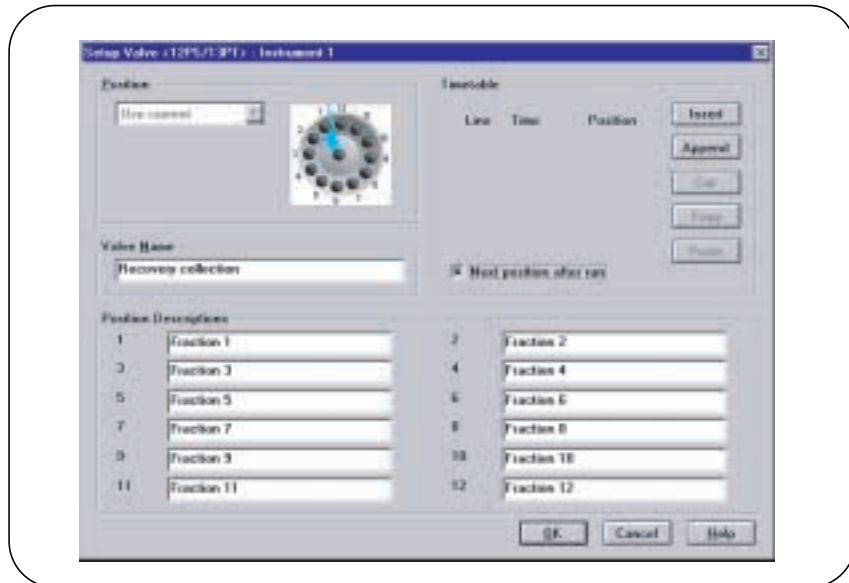


図 2
バルブ設定ウィンドウ

リカバリーコレクションを行う場合は "Next position after run" ボックスにチェックマークを付ける必要があります。これにより、Positionが自動的にUse current に設定されます。このように設定しておくと精製ランが終了すると自動的にスイッチが次のリカバリー位置に切換わり、次のランの開始までこの位置が保たれます。すなわち、サンプル1 のリカバリーは1 番目の位置に、サンプル2 のリカバリーは2 番目の位置に、という具合に順番に回収されてゆきます。この処理を実行するためには、最初のランをスタートさせるときにバルブを手動で1 番目の位置に切換えておく必要があります。12 ポジション/13 ポートバルブを使用すれば 12 検体までのサンプルからリカバリーを採取することができます。

それ以上のリカバリー位置が必要な場合には最初バルブの後段に 12 ポジション/13 ポートバルブを増設します。リカバリー位置の数はシステムに取り付け可能なバルブの最大数と、接続されたそれぞれのバルブをコントロールするメソッド設定の複雑さによってのみ制限されます。バルブが切替るのはランが終了し、ポストランが始まる前の時点であるため、カラム平衡化などのポストランのプロセスはランタイムの中に含めておくようにお奨めします。そうしておけば、カラム洗浄と平衡化の間にカラムから流出する移動相は、次のサンプルのリカバリー位置ではなく現在のサンプルのリカバリー位置に回収されます。メソッド例を表1a と1b に示します。

タイムベースフラクションコレクション
Agilent 1100 シリーズ 12 ポジション/13 ポートバルブを検出器出口に直接接続してシンプルなフラクションコレクタとして使用することも可能です。この応用では単にタイムテーブル (図3) で指定した時間スライスでバルブを切替えてフラクションを採取します。最後のポジションが廃液ポジションとなり、ランを実行していないときの移動相はこのポジションに送られます。メソッドの中で開始位置として固定ポジションが使用されるため、ラン終了後は再びこの位置へバルブが切替わります。したがって、平衡化、注入サイクルなどの時間中にカラムから流出する移動相はすべてが廃液ポジションへ送液され、フラクションを汚染したり希釈したりすることがありません。

ポストタイムを使用した場合

グラジエント : at 0 min 10 % B
at 9 min 90 % B
at 10 min 90 % B
ストップタイム : 10 min
ポストタイム : 3 min

表 1a
ポストタイムでカラムを平衡化するグラジエントラン

ポストタイムを使用しない場合

グラジエント : at 0 min 10 % B
at 9 min 90 % B
at 10 min 90 % B
at 10.1 min 10 % B
at 13 min 10 % B
ストップタイム : 13 min
ポストタイム : OFF

表 1b
カラムの平衡化をランタイムに含めたグラジエントラン

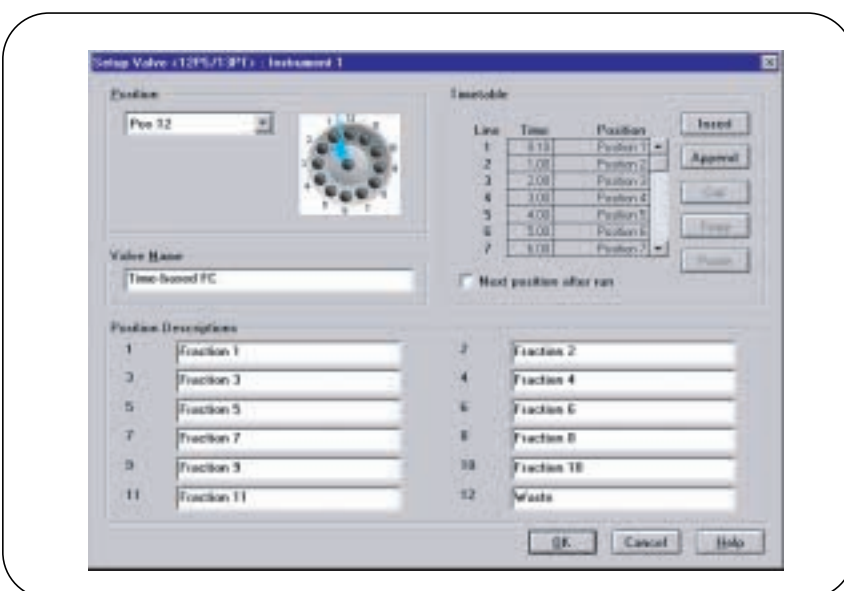


図 3
12 ポジション/13 ポートバルブを使用したタイムベースフラクションコレクション

これらのバルブ設定を含むメソッドを使って、連続した複数回の精製ランからのフラクションをプーリングできます。異なったサンプルバイアルからの注入も可能です。Agilent 1100 シリーズ12 ポジション/13 ポートバルブでタイムベースフラクションコレクションを実行するにはケミステーションソフトウェアのみが必要で、ピュリフィケーション/ハイスループット・ソフトウェアは必要ありません。

結論

このアプリケーションノートでは Agilent 1100 シリーズピュリフィケーションシステムに12 ポジション/13 ポートバルブを使用する方法について紹介しました。このバルブをフラクションコレクタの廃液ラインに接続すればフラクションコレクタとしての使用が可能です。また、ピュリフィケーションシステムでシンプルなフラクションコレクタとして使用し、タイムベースフラクションコレクションを実行することができます。

参考文献

1. “New perspectives in purification with HPLC and HPLC/MS”, Agilent Technologies Brochure, **2001**, publication number 5988-3673EN.
2. “New dimensions for HPLC applications”, Agilent Technologies Brochure, **2002**, publication number 5988-6707EN.

Udo Huber は Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) のアプリケーションケミストです。

www.agilent.co.jp/chem/yan

Copyright © 2002 Agilent Technologies
All Rights Reserved.
著作権法で許された例外を除き、Agilent Technologies の書面による事前の同意なしにこの文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

発行：2002年 10月 1日
資料番号：5988-8225JAJP

横河アナリティカルシステムズ株式会社 本社/〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタムコンタクトセンター ☎ 0120-477-111

- 1) システム、製品および部品に関するご相談窓口
- 2) 製品の操作、アプリケーションの問合せおよび故障時の連絡窓口